·论著·

通脑饮治疗急性脑梗死的临床疗效及作用机制研究：基于网络药理学和分子对接技术

张林[1]，高锦[2]，吴明华[3]，王广梅[4*]

1.210000 江苏省南京市，南京中医药大学附属南京市中西医结合医院神经内科
2.210000 江苏省南京市，南京中医药大学
3.210000 江苏省南京市，南京中医药大学附属医院 江苏省中医院神经内科
4.210000 江苏省南京市，南京中医药大学附属南京市中西医结合医院药剂科
*通信作者：王广梅，副主任药师；E-mail：wgmzxyjhyy@126.com

【摘要】 **背景** 脑梗死是由各种原因引起的局部脑组织区域供血障碍，通脑饮为江苏省中医院治疗脑梗死的协定方。**目的** 本研究旨在通过网络药理学和临床试验，解释通脑饮治疗脑梗死的机制。**方法** 选取 2019 年 1 月—2020 年 6 月江苏省中医院收治的 199 例脑梗死患者。根据随机数字表法，将患者分为对照组（97 例）和试验组（102 例）。两组均接受稳定型脑梗死的标准化治疗，试验组加用通脑饮治疗。治疗前和治疗 2 周时，两组均采用美国国立卫生研究院卒中量表（NIHSS）评估卒中引起的功能损害程度，采用改良的 Rankin 量表（mRS）评估神经功能的恢复情况。从 TCMSP 和文献中筛选通脑饮的化学成分，选择生物利用度（OB）≥ 30% 和药物相似性（DL）≥ 0.18 要求的成分寻找该处方的有效成分。利用 OMIM 和 GeneCards 数据库分析通脑饮治疗脑梗死的分子靶点。在筛选出共同靶点后，用 Cytoscape 软件、String 数据库分别绘制化合物和靶蛋白的网络图、构建蛋白相互作用（PPI）网络和基因本体论（GO）功能及京都基因和基因组百科全书（KEGG）信号通路富集分析。最后，进行分子对接实验，确定通脑饮治疗脑梗死的主要活性成分。**结果** 治疗后，试验组 NIHSS、mRS 评分均低于对照组（$P<0.05$）。最终得到通脑饮活性成分 60 个，潜在靶点 147 个，疾病相关靶点 5 167 个，药物与疾病的交集靶点 121 个。KEGG 信号通路富集分析获得前列腺癌症、神经活性配体 - 受体相互作用、IL-17 信号通路、催乳素信号通路、PI3K-Akt 信号通路、钙信号通路等。分子对接显示，通脑饮治疗脑卒中的主要活性成分 β 谷甾醇、山柰酚和胡萝卜素与核心蛋白雄激素受体（AR）有较好的结合性。**结论** 通脑饮可能通过激活 AR 来治疗脑梗死。IL-17 信号通路、PI3K-Akt 信号通路和催乳素信号通路也是潜在的机制。

【关键词】 脑梗死；通脑饮；网络药理学；炎症；分子对接
【中图分类号】 R 743.33 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0594

Clinical Efficacy and Mechanism of Action of Tongnao Decoction Treating Acute Cerebral Infarction：a Study Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

ZHANG Lin[1]，GAO Jin[2]，WU Minghua[3]，WANG Guangmei[4]*
1.Department of Neurology，Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital，Nanjing 210000，China
2.Nanjing University of Chinese Medicine，Nanjing 210000，China
3.Department of Neurology，Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine/Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine，Nanjing 210000，China
4.Department of Pharmacy，Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital，Nanjing 210000，China
**Corresponding author：WANG Guangmei，Associate chief pharmacist；E-mail：wgmzxyjhyy@126.com*

【Abstract】 **Background** Cerebral infarction is a disorder of blood supply to the local brain tissue area caused by various causes. Tongnao Decoction is approved and used in Jiangsu Province Hospital for the treatment of cerebral infarction.

基金项目：江苏省中医药管理局项目（ZT202102）
引用本文：张林，高锦，吴明华，等. 通脑饮治疗急性脑梗死的临床疗效及作用机制研究：基于网络药理学和分子对接技术［J］. 中国全科医学，2023.［Epub ahead of print］. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0594.［www.chinagp.net］
ZHANG L，GAO J，WU M H，et al. Clinical efficacy and mechanism of action of Tongnao Decoction treating acute cerebral infarction：a study based on network pharmacology and molecular docking［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.

Objective To explain the mechanism of Tongnao Decoction in the treatment of cerebral infarction through network pharmacology and clinical trails. **Methods** From January 2019 to June 2020，a total of 199 patients with cerebral infarction admitted to Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine were included in the clinical study. and divided into the control group（97 cases）and experimental group（102 cases）according to the method of random number table. Both groups received standardized treatment for stable cerebral infarction，and the experimental group was treated with Tongnao Decoction. The National Institutes of Health Stroke Scale（NIHSS）was used to assess the degree of functional impairment caused by stroke，and the modified Rankin Scale（mRS）was used to assess the recovery of neurological function for both groups before treatment and at 2 weeks of treatment. The chemical compounds of Tongnao Decoction were screened from TCMSP and literature，and those with bioavailability（OB）≥ 30% and drug-like properties（DL）≥ 0.18 requirements were selected to find the active ingredient of the prescription. OMIM and GeneCards databases were used to analyze the molecular targets of Tongnao Decoction for the treatment of cerebral infarction. After screening the common targets，Cytoscape software，String database were used to plot the network of compounds and target proteins，construct protein-protein interaction（PPI）network，gene ontology（GO）function，and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes（KEGG）signaling pathway enrichment analysis，respectively. Molecular docking experiments were finally performed to identify the main active ingredients of Tongnao Decoction for the treatment of cerebral infarction. **Results** After treatment，the scores of NIHSS and mRS in the experimental group were lower than those in the control group（$P<0.05$）. Finally，60 active ingredients of Tongnao Decoction were obtained，including 147 potential targets，5167 disease-related targets，and 121 intersection targets of drugs and diseases. The enrichment analysis of KEGG signaling pathway obtained prostate cancer，neuroactive ligand-receptor interaction，IL-17 signaling pathway，prolactin signaling pathway，PI3K-Akt signaling pathway，calcium signaling pathway，etc. Molecular docking showed that β-sitosterol，kastricol and carotene，the main active ingredients of Tongnao Decoction in the treatment of stroke，had good binding properties to the core protein androgen receptor（AR）. **Conclusion** Tongnao Decoction may play a role in treating cerebral infarction by activating AR. IL-17 signaling pathway，PI3K-Akt signaling pathway and prolactin signaling pathway are potential mechanisms as well.

【Key words】 Brain infarction；Tongnao decoction；Network pharmacology；Inflammation；Molecular docking

脑卒中是全球最严重的公共健康问题[1-2]，其中70% 为缺血性脑卒中。目前，缺血性脑卒中最直接和有效的治疗手段是采用静脉溶栓、动脉溶栓、机械取栓等手段迅速开通闭塞血管，促进血运重建，挽救半暗带区濒死的神经元[3]。但是，血运重建后的缺血－再灌注损伤则会加重脑损害，治疗缺血－再灌注损伤的药物有自由基清除剂、阿片受体阻断剂、兴奋性氨基酸受体阻断剂等神经保护剂，但还没有足够的临床证据支持广泛运用这些药物[4]。

通脑饮能显著改善急性脑梗死患者的神经功能缺损症状，提高日常生活自理能力，在一定程度上降低致残率，改善急性脑梗死患者的脑血流，改善血液供应[5-6]。此外，其可以在急性脑梗死早期更大程度上发挥与抗血小板药物的协同作用，显著抑制血小板聚集，并改善血小板相关参数[7]。

通脑饮包含川芎（CX）、钩藤（GT）、天南星（TNX）、红景天（HJT）、九节菖蒲（JJCP）、天麻（TM）、僵蚕（JC）、水蛭（Leech，SZ）。多药配伍被认为是中医理论的精髓，然而，由于所涉及的成分复杂和目标众多，使用传统方法充分阐明其机制具有挑战性。因此，有必要从系统层面揭示通脑饮治疗 CI 的潜在机制。《中医药振兴发展重大工程实施方案》指出：支撑开展中医药交叉学科研究，充分利用现代科学技术说明白中医药疗效，讲清楚中医药作用原理。而网络药理学是一门基于系统生物学理论、生物系统网络分析和多靶点药物分子设计特定信号节点选择的新学科。网络药理学强调信号通路的多渠道调节，提高药物的治疗效果，减少毒副作用，从而提高新药临床试验的成功率，节约药物研发成本。随着系统生物学和计算机技术的不断创新和发展，网络药理学已被确认为有效和系统地阐明中药的物质组成和分子机制的可行选择[7-8]。此外，网络药理学方法已用于研究“复合蛋白 / 基因疾病”途径，该途径能够从网络角度描述生物系统、药物和疾病之间的复杂性，与中医药共享类似的整体哲学[9]。应用系统生物学方法研究中药的药理作用、作用机制和安全性，对现代中药研究和发展具有重要意义。因此，一种称为中医网络药理学的新的跨学科方法被提出，其开创了一种新的研究范式，将中医从基于经验的医学转变为循证医学。张伯礼院士带头的构建“经典文献－组分筛选－药理评价－临床验证”技术流程将会为中医现代化提供一个合适的技术平台。此外，随着分子生物学和基因组技术的最新进展，越来越多的数据可用[10]。例如，TCMSP[11]、STRING[12]、OMIM[13]、DisGeNET[14-15]等。分子对接是一种通过受体的特性以及受体和药物分子相互作用的方式设计药物的方法，其是一种理论模拟方法，主要研究分子（如配体和受体）之间的相互作用，

并预测它们的结合模式和亲和力。

本研究使用网络药理学预测通脑饮治疗脑梗死的潜在机制。工作流程见图 1。

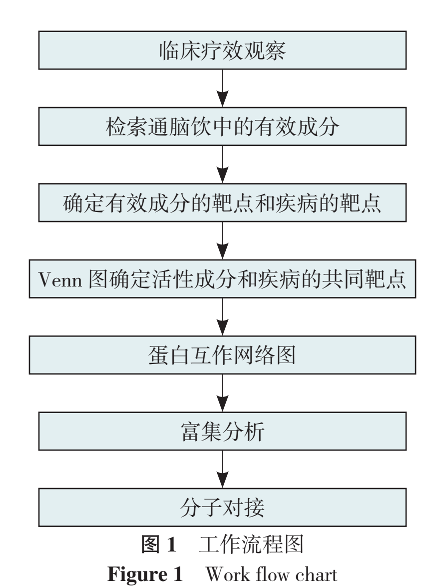


图 1 工作流程图
Figure 1 Work flow chart

1 临床资料和方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 1 月—2020 年 6 月江苏省中医院收治的 199 例脑梗死患者。根据随机数字表法，将患者分为对照组（97 例）和试验组（102 例）。本研究经江苏省中医院伦理委员会批准（伦理编号：2017NL-012-01）。在进入小组之前，患者及其家属被告知所有研究内容和相关权益，并充分了解，并在自愿参与的前提下签署知情同意书。治疗期间，对照组有 1 例不配合治疗，最终有效病例为对照组 96 例，试验组 102 例。确诊最多的患者是腔隙性脑梗死患者。

1.2 纳入、排除标准

1.2.1 纳入标准：（1）符合《中国急性缺血型卒中诊断指南》的诊断标准[16]且 48 h 内通过颅脑 CT 和核磁共振检查，确诊为脑梗死；（2）通过颈动脉彩色多普勒检测，确定颈动脉内膜中层厚度（CA-IMT）至少为 1.2 mm；（3）自愿参加，依从性较好，并能坚持随访。

1.2.2 排除标准：（1）颈动脉超声示官腔斑块导致血流严重堵塞；（2）合并严重心肺功能不全、心律严重失常者；（3）肝肾功能严重失调者；（4）重症感染者及恶性肿瘤感染者；（5）冠状动脉急性症候群；（6）体质或者药物过敏者；（7）妊娠或哺乳的妇女。

1.2.3 剔除、脱落及终止标准：（1）对本研究使用的药物有严重不良反应者；（2）不遵医嘱或治疗过程中因各种原因未完成疗程或治疗不全者；（3）治疗期间发生严重疾病不能继续治疗者；（4）数据处理时发现数据缺失的患者。

1.3 治疗方法

入院后，两组均接受稳定型脑梗死的标准化治疗，包括抗血小板聚集，口服拜阿司匹林片 0.1 g，1 次 /d；氯吡格雷 75 mg，1 次 /d，单用或两药联用；抗动脉硬化、稳定斑块（阿托伐他汀钙片 20 mg，qd 或瑞舒伐他汀 10g，qd）、清除氧自由基等。试验组在对照组基础上加用通脑饮治疗［制南星 10 g、川芎 10 g、天麻 10 g、钩藤（后下）30 g、红景天 15 g、水蛭 5 g、白僵蚕 10 g、九节菖蒲 10 g］，水煎服，1 副 /d，服用 2 周。

1.4 观察指标

两组均接受 2 周的治疗，入院时和治疗 2 周时评估美国国立卫生研究院卒中量表（NIHSS）评分和改良 Rankin 量表（mRS）评分。NIHSS 用于评估卒中引起的功能损害程度，由 11 项测试组成，得分为 0~42 分。得分越高表示卒中越严重，与卒中造成的脑损伤呈正相关[17]。mRS 用于测量卒中后患者神经功能的恢复情况，分值为 0~5 分，分值越低，恢复状态越好[18]。

1.5 网络药理学分析

1.5.1 通脑饮化学成分筛选及成分靶点预测：从 TCMSP 和文献中筛选通脑饮的化学成分（http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php）[19]。TCMSP 是一个中草药系统药理平台，可以得到药物、靶标和疾病之间的关系。根据通脑饮中的各种化合物的药代动力学吸收、分布、代谢和排泄，即 ADME 过程，对其进行筛选。TCMSP 数据库详细描述了每种成分的 ADME 参数，包括口服生物利用度（OB）、药物相似性（DL）、血 - 脑脊液屏障（BBB）等。OB 表示药物成分的口服可用性，DL 表示成分和已知药物之间的相似性。选择满足 OB ≥ 30% 和 DL ≥ 0.18 要求的成分来寻找该处方的有效成分。

1.5.2 预测所选化合物的靶蛋白：将所有活性成分输入 TCMSP 数据库以获得其已知靶点，并使用 Cytoscape3.8.2 工具绘制化合物和靶蛋白的网络图。

1.5.3 寻找与疾病相关的目标：以“脑梗塞”为关键词，OMIM（http://www.omim.prg/）和 GeneCards（http://www.genecards.org/）用于搜索和筛选用于后续研究的已知疾病靶标，并丢弃搜索结果中重复的靶标。UniProt 知识库[20-21]（http://www.uniprot.org/）用于获取标准目标的名称，并将该生物体选为“智人”。

1.5.4 通脑饮和 CI 的常见靶点和关键靶点的研究：使用在线工具绘制 Venn 图，Venn 图用于展示不同群组之间的联系，在本研究中可以获得靶点药物与疾病的共同靶点。将获得的交叉靶标用作药物效应靶标，并使用 Cytoscape3.8.2 构建药物效应靶标组分相互作用网络。分析网络以获得其 Degree 值，Degree 值反映靶点的关键程度，Degree 值越高，药物和靶点越重要，最终获得

关键药物效果目标。

1.5.5 蛋白质－蛋白质相互作用网络的构建：使用STRING（检索相互作用基因 / 蛋白质的搜索工具）数据库，该数据库包含已知和预测的PPI。通过该数据库构建通脑饮在脑梗死中潜在靶基因的蛋白质－蛋白质相互作用（PPI）网络。

1.5.6 富集度分析：为了确定主要枢纽靶基因参与的生物过程和信号通路，使用注释、可视化和集成发现数据库（David）进行通路富集分析。将脑梗死中通脑饮的靶基因输入到David基因本体（GO）生物过程分析和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路分析中。$P \leqslant 0.01$ 的GO生物过程和 $P \leqslant 0.01$ 的KEGG途径被认为具有显著富集性。

1.5.7 分子对接：为了确定通脑饮治疗脑梗死的主要活性成分，对蛋白质分子雄激素受体（androgen receptor，AR）的小分子进行分子对接操作。首先从Pub Chem数据库下载SDF格式的活性成分，然后利用Chem 3D进行能量最小化计算将文件转换为MOL2格式；通过RCSB PDB数据库下载靶蛋白的PDB结构文件，使用Auto Dock Tools软件去除杂原子、计算电荷等；最后运行Auto Dock Vina进行分子对接，通过CB-Docl（http://clab.labshare.cn/cb-dock）将结果可视化。

1.6 统计学方法

采用SPSS 25.0统计软件进行数据处理与分析。计数资料和等级资料采用 χ^2 检验或非参数检验。非正态分布的计量资料以 M（P_{25}，P_{75}）表示，两组间比较采用Mann-Whitney U 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床试验结果

治疗前，两组NIHSS和mRS评分比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后，试验组NIHSS、mRS评分均低于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；两组治疗后NIHSS、mRS评分均低于治疗前，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表1。

2.2 网络药理学分析结果

2.2.1 不同数据库中通脑饮和CI的靶点识别：数据库检索筛选出通脑饮中的活性成分（表2），并使用Cytoscape 3.8.2构建了活性成分靶标相互作用网络（图2）。通过关键词搜索，在Genecards数据库和OMIM数据库中获得脑梗死的相关靶点。Venny图构建了活性成分靶标和疾病靶标的交集（图3）。共有134个交叉靶点用于后续的网络药理学分析。

2.2.2 寻找关键目标并建立PPI网络：将获得的交叉靶标用作药物效应靶标，使用Cytoscape 3.8.2构建药物效应靶标组分相互作用网络（图4）。分析网络以获取其“度”值。具有Degree值的前20个药效学靶点包括雌激素受体（ESR1）、AR、环氧合酶2（PTGS2）、细胞周期蛋白依赖性激酶2（CDK2）等（表3）。构建PPI网络图展示各靶点之间的关系（图5）。

2.2.3 GO和KEGG的富集分析：根据P值，GO分析的BP的重要项目是细胞对脂质的反应、细胞定位的调节、信号转导、细胞对刺激的反应、化学刺激的细胞反应、刺激的反应，生物合成过程的正调节、信号传导的调节、血压的调节、运输的调节，活性氧代谢过程的正调节等（图6）。初步推断通脑饮与CI治疗中的炎症反应密切相关。

根据P值，KEGG分析共筛选出20条通路，包括前列腺癌症、神经活性配体－受体相互作用、IL-17信号通路、催乳素信号通路、PI3K-Akt信号通路、钙信号通路等（图7）。

2.2.4 分子对接：得到3个活性成分与AR靶点的对接结果，其中，AR与β谷甾醇结合最稳定，得分为-10.1 kJ/mol，AR与山柰酚的对接组合得分为-7.5 kJ/mol，AR与胡萝卜素的对接组合得分为-7.02 kJ/mol。对接三维视图见图8。

3 讨论

3.1 概述

脑梗死主要是由向大脑供血动脉的动脉粥样硬化和血栓形成引起的，使管腔狭窄甚至闭塞，导致局灶性急性脑功能不全；也有异常物体（固体、液体和气体）沿着血液循环进入大脑动脉或供应大脑血液循环的颈动脉，导致血流受阻或血流突然减少，导致相应优势区域的脑组织软化和受损。在本研究中，通脑饮被用于治疗

表1 两组患者治疗前后NIHSS、mRS评分比较［M（P_{25}，P_{75}），分］

Table 1 Comparison of NIHSS and mRS scores before and after treatment between the two groups of patients

组别	例数	NIHSS评分				mRS评分			
		治疗前	治疗后	$Z_{配对}$值	P值	治疗前	治疗后	$Z_{配对}$值	P值
对照组	96	3.0（2.0，6.0）	1.5（1.0，3.0）	-5.577	≤0.001	2.5（1.0，4.0）	2.0（1.0，2.0）	-5.759	≤0.001
试验组	102	2.0（1.0，6.0）	1.0（0，2.0）	-5.592	≤0.001	1.0（1.0，4.0）	1.0（1.0，4.0）	-2.586	0.010
Z值		-1.714	-3.192			-0.427	-2.053		
P值		0.087	0.001			0.669	0.040		

表 2 通脑饮中的有效成分

Table 2 Active ingredients in Tongnao Decoction

药物	ID	成分	OB(%)	DL
CX	MOL001494	Mandenol	42	0.2
	MOL002135	Myricanone	40.6	0.5
	MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.3
	MOL002151	senkyunone	47.66	0.2
	MOL002157	wallichilide	42.31	0.7
	MOL000359	sitosterol	36.91	0.8
	MOL000433	FA	68.96	0.7
GT	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.8
	MOL000359	sitosterol	36.91	0.8
	MOL000422	kaempferol	41.88	0.2
	MOL000073	ent-Epicatechin	48.96	0.2
	MOL008455	3-oxo-22α-hydroxyurs-12-en-27，28-dioc acid	32.33	0.7
	MOL008456	(3E，4R)-4-(1，3-benzodioxol-5-ylmethyl)-3-[(3，4，5-trimethoxyphenyl)methylidene] oxolan-2-one	51.78	0.6
	MOL008457	Tetrahydroalstonine	32.42	0.8
	MOL008458	Angustidine	51.85	0.7
	MOL008460	geissoschizinc acid	49.92	0.6
	MOL008463	SMR000232338	56.74	0.7
	MOL008465	(E)-16，17-Didehydro-17-methoxy-17，18-seco-3-beta-yohimban-16-carboxylic acid methyl ester	32.75	0.6
	MOL008467	Rhynchophylline A	68.68	0.7
	MOL008468	methyl (E)-2-[(2S，3Z，12bS)-3-ethylidene-2，4，6，7，12，12b-hexahydro-1H-indolo[3，2-h] quinolizin-2-yl]-3-methoxyprop-2-enoate	56.83	0.6
	MOL008469	Rhynchophylline	41.82	0.6
	MOL008470	SMR000232333	78.38	0.7
	MOL008471	Isorhyncophylline	47.31	0.6
	MOL008472	hirsutasideA	70.34	0.8
	MOL008473	(E)-2-[(3S，6′S，7′S，8′aS)-6′-ethyl-2-keto-spiro[indoline-3，1′-indolizidine]-7′-yl]-3-methoxy-acrylic acid methyl ester	57.85	0.6
	MOL008474	(E)-2-[(3R，6′S，7′S，8′aS)-6′-ethyl-2-keto-spiro[indoline-3，1′-indolizidine]-7′-yl]-3-methoxy-acrylic acid methyl ester	54.47	0.6
	MOL008475	Mitraphyllic acid	31.7	0.7
	MOL008476	hirsutasideB	40.21	0.8
	MOL008477	corynoxeine	57.13	0.6
	MOL008478	methyl (E)-2-[(2S，3R，12bS)-3-vinyl-1，2，3，4，6，7，12，12b-octahydroindolo[3，2-h] quinolizin-2-yl]-3-methoxy-prop-2-enoate	31.94	0.6
	MOL008481	(1′R，3S，4a′S，5a′S，10a′R)-1′-methyl-2-oxo-1′，4a′，5′，5a′，7′，8′，10′，10a′-octahydrospiro[indoline-3，6′-pyrano[3，4-f] indolizine]-4′-carboxylic acid	105.22	0.7
	MOL008482	(2S，12bR)-methyl 2-((E)-1-oxobut-2-en-2-yl)-1，2，6，7，12，12b-hexahydroindolo[2，3-a] quinolizine-3-carboxylate	42.07	0.6

（续表 2）

药物	ID	成分	OB(%)	DL
	MOL008484	vincoside lactam_qt	50.81	0.8
	MOL008485	hirsutasideC	34.27	0.8
	MOL008487	hirsutine	34.44	0.4
	MOL008488	yohimbine	46.42	0.8
	MOL008489	delta (sup 18)-Hirsutine	41.64	0.6
	MOL008490	isocorynantheic acid	72.36	0.6
	MOL000098	quercetin	46.43	0.3
	MOL008635	coryincine	38.27	0.8
TNX	MOL013146	8，11，14-Docosatrienoic acid，methyl ester	43.23	0.3
	MOL013156	[(2R)-2-[[[(2R)-2-(benzoylamino)-3-phenylpropanoyl] amino] methyl]-3-phenylpropyl] acetate	38.88	0.6
	MOL001510	24-epicampesterol	37.58	0.7
	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.8
	MOL000359	sitosterol	36.91	0.8
	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.8
	MOL000953	CLR	37.87	0.7
HGT	MOL000422	Kaempferol	41.88	0.2
	MOL001525	daucosterol	36.91	0.8
	MOL000569	gallic acid	61.85	0.3
JJCP	MOL001987	β-sitosterol	33.94	0.7
TM	MOL000296	β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside	36.91	0.8
	MOL008173	daucosterol	36.91	0.8
	MOL005399	alexandrin	36.91	0.8
JC	MOPL001532	phytosterol	36.91	0.8
	MOL000953	Cholesterol	37.87	0.7
	MOL001525	Daucosterol	36.91	0.8
	MOL000422	Kaempferol	41.88	0.2
SZ	MOL000433	glutamic acid	68.96	0.7
	MOL006967	Xanthine	44.72	0.2

注：蓝色节点表示这些成分共享的化合物；深蓝色节点代表钩藤的化合物；青色节点代表川芎的化合物；灰色节点代表天南星的化合物；紫色节点代表水蛭的化合物；粉红色的节点代表红景天的化合物；黄色节点代表天麻的化合物；橙色节点代表僵蚕的化合物；红色节点代表九节菖蒲的化合物；绿色节点表示通脑饮相关的靶点。

脑梗死。然而，用传统方法阐明通脑饮治疗脑梗死的复杂机制具有挑战性。因此，将基于大数据生物信息学的网络药理学整合到中医药治疗疾病的分子机制研究中是至关重要的[22-23]。本研究采用网络药理学方法探讨通脑饮治疗 CI 的物质基础和分子机制。

目前西医治疗脑梗死的药物很多，但是存在呼吸困难、胃肠道反应等不良反应[24-26]。中药具有多靶点、不良反应少等特点。本研究发现了 121 个药物和疾病的共同靶点，这些靶点可能是治疗脑梗死时该处方的靶点。基于拓扑分析，本研究进一步从 121 个后续研究的共同靶点中找到了 23 个关键靶点，包括 ESR1、AR、DPP-4、PTGS2、CDK2 等。其中，HSP90 是一种普遍存在的

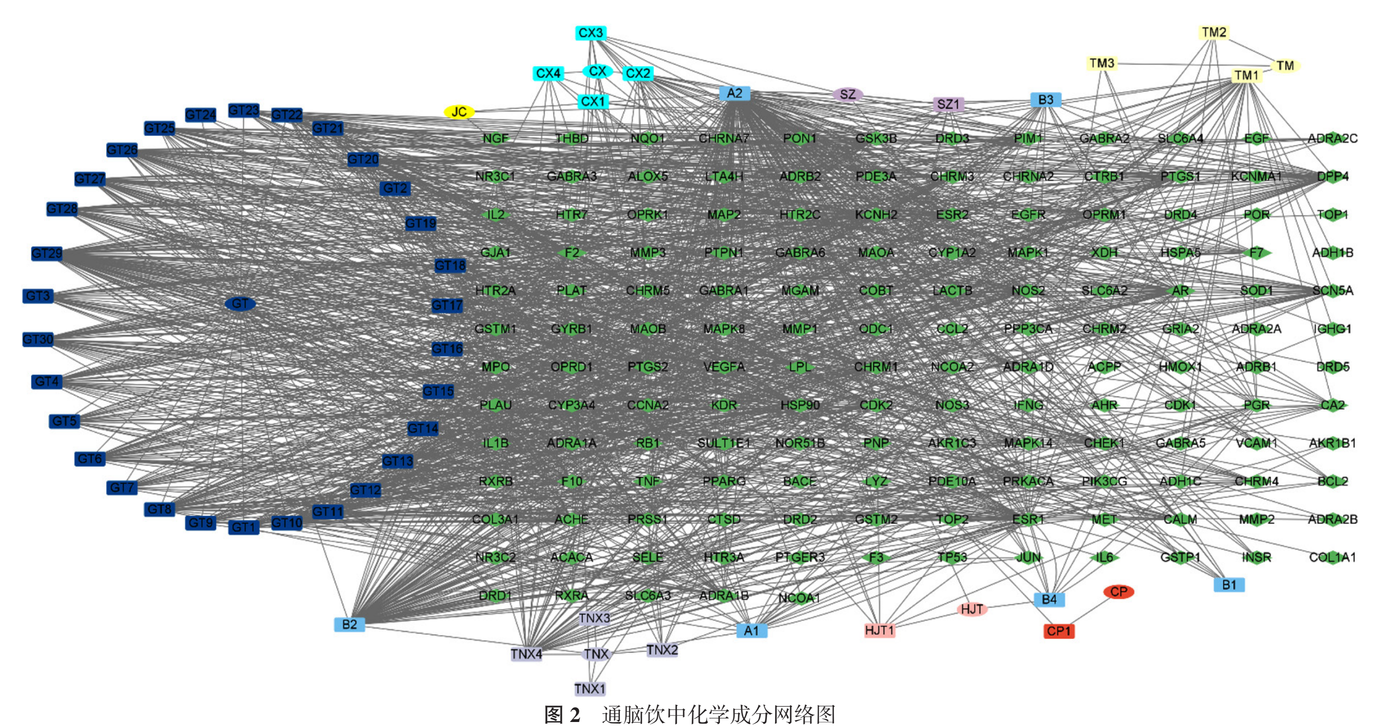


图 2　通脑饮中化学成分网络图

Figure 2　Network map of chemical components in Tongnao Decoction

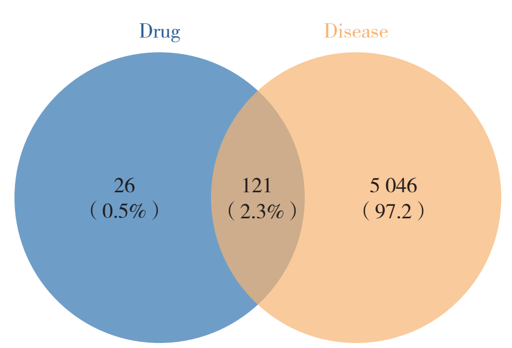


图 3　通脑饮治疗脑梗死的靶点 Venn 图

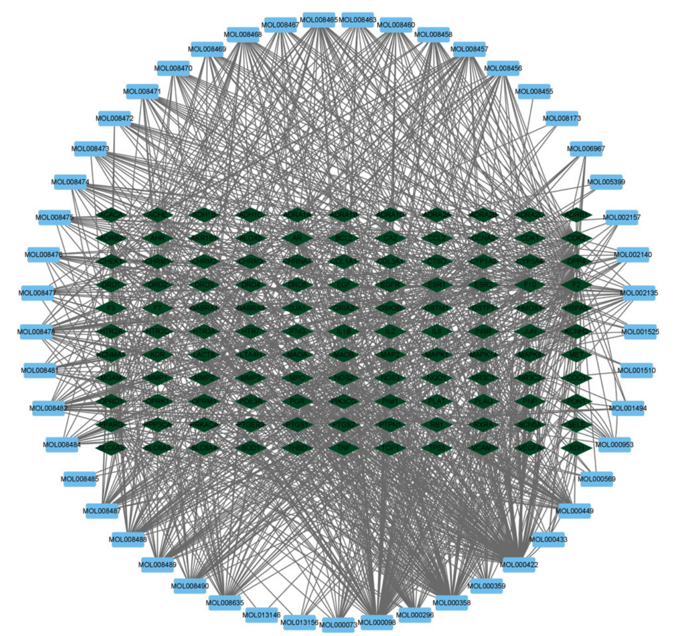
Figure 3　Target Venn map of Tongnao Decoction in the treatment of cerebral infarction

分子伴侣[27]。HSP90 抑制剂具有显著的抗炎作用[28-29]。本研究 GO 分析、临床试验和其他现代研究的结合证实了炎症在脑梗死中的重要作用。KEGG 富集分析显示了 IL-17（脑梗死中的信号通路）的重要地位。HSP90 在这些通路中起着至关重要的作用。

本研究主要关注 AR 基因作为子网络中的关键节点。分子对接是在小分子和编码蛋白质之间进行的。在分子对接后，发现 3 种分子与 AR 直接相互作用：β 谷甾醇、山柰酚和胡萝卜素。预计进一步的研究将评估这些分子之间的协同作用。

3.2　临床意义

本研究使用 NIHSS 评分和 mRS 评分分别比较入院和出院时使用通脑饮和未使用通脑饮患者的状况。结果显示，治疗后，试验组 NIHSS 评分和 mRS 评分均低于对照组。在一般西药治疗的基础上，加上江苏省中医院



注：蓝色节点代表通脑饮的化合物；深绿色节点代表通脑饮相关的关键靶点。

图 4　通脑饮治疗脑梗死的靶点网络图

Figure 4　Target network map of Tongnao Decoction in the treatment of cerebral infarction

协定方通脑饮可以显著改善患者生活质量。

3.3　局限性

网络药理学中确定的关键靶点和 / 或途径尚未在临床试验中得到验证，但本研究的临床结果可以显著比较使用通脑饮前后 NHISS 和 mRS 评分的改善，并证明通脑饮可以有效减少脑梗死的功能损害，对神经有一定的

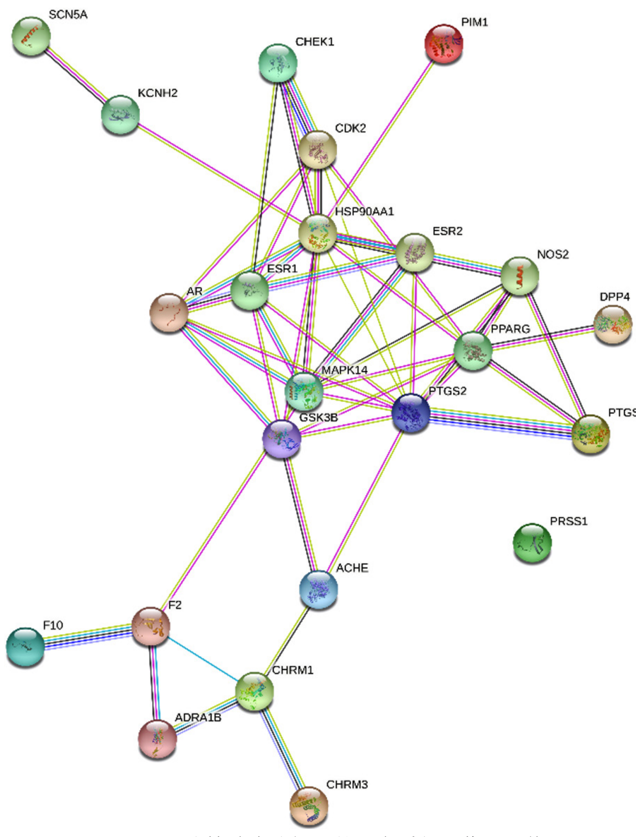


图 5 通脑饮治疗脑梗死的蛋白质相互作用网络

Figure 5 Protein interaction network of Tongnao Decoction in the treatment of cerebral infarction

表 3 通脑饮治疗脑梗死的关键靶点

Table 3 Key targets of Tongnao Decoction in the treatment of cerebral infarction

UniP-ID	Protein names	Degree
P03372	Estrogen receptor（ESR1）	51
P10275	Androgen receptor（AR）	47
P00734	Prothrombin（F2）	44
P35354	Prostaglandin G/H synthase 2（PTGS2）	43
P27487	Dipeptidyl peptidase 4（DPP4）	39
P24941	Cyclin-dependent kinase 2（CDK2）	37
P07900	Heat shock protein HSP 90-alpha（HSP90）	35
P49841	Glycogen synthase kinase-3 beta（GSK3B）	34
P35228	Nitric oxide synthase，inducible（NOS2）	34
P23219	Prostaglandin G/H synthase 1（PTGS1）	33
Q14524	Sodium channel protein type 5 subunit alpha（SCN5A）	30
P11229	Muscarinic acetylcholine receptor M1（CHRM1）	29
P22303	Acetylcholinesterase（ACHE）	29
P07477	Trypsin-1（PRSS1）	28
Q92731	Estrogen receptor beta（ESR2）	28
P37231	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma（PPARG）	27
P35368	Alpha-1B adrenergic receptor（ADRA1B）	26
Q12809	Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2（KCNH2）	26
P00742	Coagulation factor X（F10）	25
P20309	Muscarinic acetylcholine receptor M3（CHRM3）	25

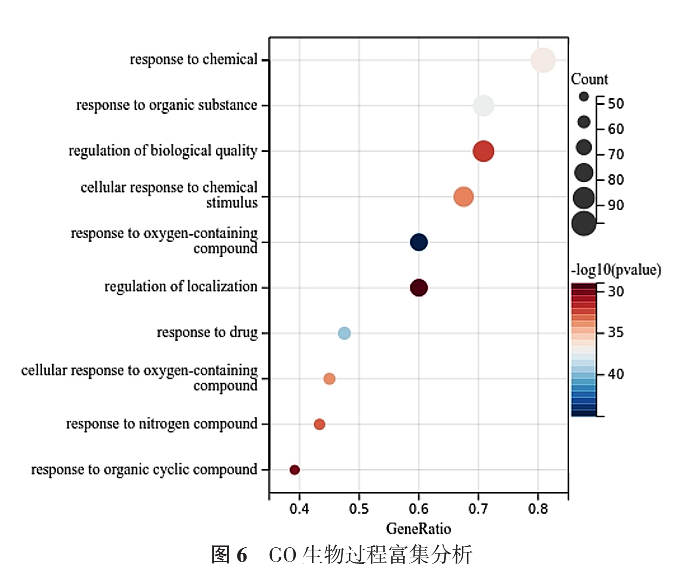


图 6 GO 生物过程富集分析

Figure 6 GO biological process enrichment analysis

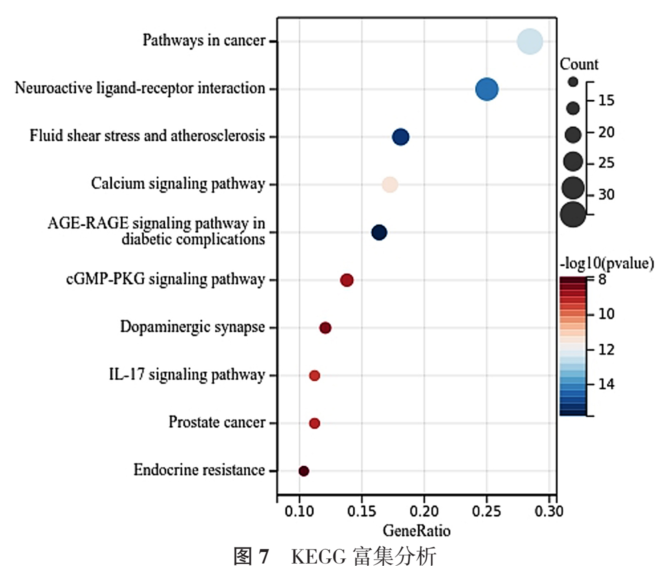


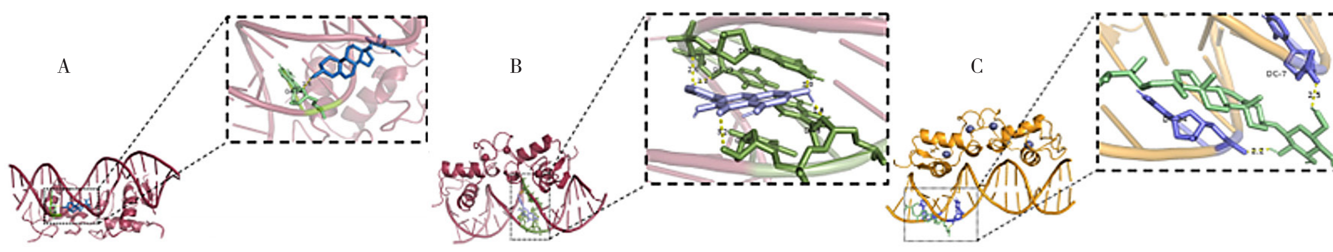
图 7 KEGG 富集分析

Figure 7 KEGG enrichment analysis

恢复作用，并且可以有效抑制炎症。然而，本研究尚未能够探索具体机制，也没有进行实验验证，即使结合网络药理学和分子对接的结果，仍然不能完全理解通脑饮的确切治疗机制，未来将会针对预测结果进行进一步的研究。

4 结论

本研究结合网络药理学和临床试验，探讨通脑饮治疗脑梗死的机制。结果表明通脑饮可能通过 HSP90 发挥抑制炎症反应的作用。此外，IL-17、催乳素、PI3K-Akt 信号通路也可能是潜在的机制。本研究证明了在西医标准治疗的基础上加上通脑饮，可以显著改善脑梗死患者相关症状，通脑饮可以被认为是脑梗死的补充或替代疗法。此外，希望计算机生物学能够为中医药的现代研究提供一种途径。



注：A 为 AR 与 β 谷甾醇三维视图；B 为 AR 与山柰酚三维视图；C 为 AR 与胡萝卜素三维视图。

图 8 分子对接结果

Figure 8 Molecular docking result

作者贡献：吴明华提出研究思路，设计研究方案，研究命题的提出、设计；张林负责进行试验或调查、调查对象的选取、样本的采集、指标化验与检测等；张林、高锦负责数据收集、采集、清洗和统计学分析、绘制图表等；高锦负责论文起草；王广梅负责最终版本修订，对论文负责。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] LAUZON B，CORRIGAN-LAUZON C，GRYNSPAN J，et al. Quantifying candidate volume for endovascular therapy for acute ischemic stroke：a retrospective chart review［J］. CMAJ Open，2018，6（4）：E671-677. DOI：10.9778/cmajo.20180057.

[2] TANAKA M，SUGIMURA N，FUJISAWA A，et al. Stabilizers of edaravone aqueous solution and their action mechanisms. 1. Sodium bisulfite［J］. J Clin Biochem Nutr，2017，61（3）：159-163. DOI：10.3164/jcbn.17-61.

[3] TANG S C，LUO C J，ZHANG K H，et al. Effects of dl-3-n-butylphthalide on serum VEGF and bFGF levels in acute cerebral infarction［J］. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2017，21（19）：4431-4436.

[4] ZHANG J J，LIU X. Aspirin plus dipyridamole has the highest surface under the cumulative ranking curves（SUCRA）values in terms of mortality，intracranial hemorrhage，and adverse event rate among 7 drug therapies in the treatment of cerebral infarction［J］. Medicine，2018，97（13）：e0123. DOI：10.1097/MD.0000000000010123.

[5] 沈璐莹，徐红，李宏辉，等. 协定方通脑饮治疗痰瘀阻络型急性脑梗死疗效观察［J］. 北京中医药，2021，40（10）：1058-1060. DOI：10.16025/j.1674-1307.2021.10.002.

[6] 吴明华，张秀胜. 自拟通脑饮治疗急性脑梗死痰瘀阻络证 220 例［J］. 辽宁中医杂志，2012，39（10）：2003-2005. DOI：10.13192/j.ljtcm.2012.10.122.wumh.037.

[7] WANG J L，ZHANG X H，XU X Y，et al. Pro-angiogenic activity of Tongnao Decoction on HUVECs in vitro and zebrafish in vivo［J］. J Ethnopharmacol，2020，254：112737. DOI：10.1016/j.jep.2020.112737.

[8] LONG S R，YUAN C H，WANG Y，et al. Network pharmacology analysis of Damnacanthus Indicus C.F.Gaertn in gene-phenotype［J］. Evid Based Complement Alternat Med，2019，2019：1368371. DOI：10.1155/2019/1368371.

[9] ZHANG R Z，ZHU X，BAI H，et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine：review and assessment［J］. Front Pharmacol，2019，10：123. DOI：10.3389/fphar.2019.00123.

[10] BOEZIO B，AUDOUZE K，DUCROT P，et al. Network-based approaches in pharmacology［J］. Mol Inform，2017，36（10）：10.1002/minf.201700048. DOI：10.1002/minf.201700048.

[11] RU J L，LI P，WANG J N，et al. TCMSP：a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines［J］. J Cheminform，2014，6：13. DOI：10.1186/1758-2946-6-13.

[12] KUHN M，SZKLARCZYK D，PLETSCHER-FRANKILD S，et al. STITCH 4：integration of protein-chemical interactions with user data［J］. Nucleic Acids Res，2014，42（Database issue）：D401-407. DOI：10.1093/nar/gkt1207.

[13] AMBERGER J S，BOCCHINI C A，SCHIETTECATTE F，et al. OMIM.org：online Mendelian Inheritance in Man（OMIM®），an online catalog of human genes and genetic disorders［J］. Nucleic Acids Res，2015，43（Database issue）：D789-798. DOI：10.1093/nar/gku1205.

[14] PIÑERO J，RAMÍREZ-ANGUITA J M，SAÜCH-PITARCH J，et al. The DisGeNET knowledge platform for disease genomics：2019 update［J］. Nucleic Acids Res，2020，48（D1）：D845-855. DOI：10.1093/nar/gkz1021.

[15] PIÑERO J，BRAVO À，QUERALT-ROSINACH N，et al. DisGeNET：a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants［J］. Nucleic Acids Res，2017，45（D1）：D833-839. DOI：10.1093/nar/gkw943.

[16] 钟迪，张舒婷，吴波.《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》解读［J］. 中国现代神经疾病杂志，2019，19（11）：897-901. DOI：10.3969/j.issn.1672-6731.2019.11.015.

[17] 周曾，凤兆海，徐竞，等. 丁苯酞联合低剂量重组组织型纤溶酶原激活物静脉溶栓治疗超早期脑梗死老年患者的疗效观察［J］. 天津医药，2023，51（10）：1141-1146. DOI：10.11958/20230414.

[18] 赛俊杰，张环，韩红星，等. 发病 4.5 至 9.0 小时前循环大血管闭塞急性缺血性卒中患者行桥接治疗与直接取栓的疗效及安全性对比分析［J］. 中国脑血管病杂志，2023，20（10）：649-658. DOI：10.3969/j.issn.1672-5921.2023.10.001.

[19] 王巧宇，刘莹，申金田，等. 基于分子对接和网络药理学的僵蚕息风止痉作用机制分析［J］. 江苏大学学报：医学版，2021，31（5）：426-430，437. DOI：10.13312/j.issn.1671-7783.y210059.

[20] UniProt Consortium. UniProt：a worldwide hub of protein knowledge [J]. Nucleic Acids Res，2019，47（D1）：D506-515. DOI：10.1093/nar/gky1049.

[21] The UniProt Consortium. UniProt：the universal protein knowledgebase [J]. Nucleic Acids Res，2017，45（D1）：D158-169. DOI：10.1093/nar/gkw1099.

[22] SHENG S，YANG Z X，XU F Q，et al. Network pharmacology-based exploration of synergistic mechanism of Guanxin II formula（II）for coronary heart disease [J]. Chin J Integr Med，2021，27（2）：106-114. DOI：10.1007/s11655-020-3199-z.

[23] TAI J，ZOU J B，ZHANG X F，et al. Using network pharmacology to explore potential treatment mechanism for coronary heart disease using Chuanxiong and Jiangxiang essential oils in jingzhi Guanxin prescriptions [J]. Evid Based Complement Alternat Med，2019，2019：7631365. DOI：10.1155/2019/7631365.

[24] PATTI G，MICIELI G，CIMMINIELLO C，et al. The role of clopidogrel in 2020：a reappraisal [J]. Cardiovasc Ther，2020，2020：8703627. DOI：10.1155/2020/8703627.

[25] Argatroban [EB/OL]. [2023-07-28]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500775/.

[26] JIANG R C，ZHAO S G，WANG R Z，et al. Safety and efficacy of atorvastatin for chronic subdural hematoma in Chinese patients：a randomized ClinicalTrial [J]. JAMA Neurol，2018，75（11）：1338-1346. DOI：10.1001/jamaneurol.2018.2030.

[27] QI J，HAN X，LIU H T，et al. 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin attenuates inflammatory responses in experimental stroke [J]. Biol Pharm Bull，2014，37（11）：1713-1718. DOI：10.1248/bpb.b14-00208.

[28] TUKAJ S，WĘGRZYN G. Anti-Hsp90 therapy in autoimmune and inflammatory diseases：a review of preclinical studies [J]. Cell Stress Chaperones，2016，21（2）：213-218. DOI：10.1007/s12192-016-0670-z.

[29] ZININGA T，RAMATSUI L，SHONHAI A. Heat shock proteins as immunomodulants [J]. Molecules，2018，23（11）：2846. DOI：10.3390/molecules23112846.

（收稿日期：2023-05-26；修回日期：2023-12-06）

（本文编辑：贾萌萌）